



TITLE:

泌尿器腫瘍と酵素 6. CdCl₂による実験的マウス睪丸腫瘍組織ならびに血清のLactic Dehydrogenase(LDH), Alkaline Phosphatase活性ならびにLDH Isozymesについて

AUTHOR(S):

石部, 知行

CITATION:

石部, 知行. 泌尿器腫瘍と酵素 6. CdCl₂による実験的マウス睪丸腫瘍組織ならびに血清のLactic Dehydrogenase(LDH), Alkaline Phosphatase活性ならびにLDH Isozymesについて. 泌尿器科紀要 1968, 14(7): 367-372

ISSUE DATE:

1968-07

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/119896>

RIGHT:

泌 尿 器 腫 瘍 と 酵 素

VI CdCl_2 による実験的マウス睪丸腫瘍組織ならびに血清の
Lactic Dehydrogenase (LDH), Alkaline Phosphatase
活性ならびに LDH Isozymes について

石 部 知 行

広島大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 仁平寛巳教授, 指導: 加藤篤二前教授*)

UROGENITAL NEOPLASMS AND ENZYMES

VI. LACTIC DEHYDROGENASE (LDH) AND ALKALINE PHOSPHATASE
ACTIVITIES AND LDH ISOZYMES OF THE TESTES AND SERA OF
THE MICE WITH TESTICULAR TUMORS EXPERIMENTALLY
INDUCED BY CADMIUM CHLORIDE

Tomoyuki ISHIBE

From the Department of Urology, Hiroshima University School of Medicine

(Chairman: Prof. H. Nihira, M. D.)

(Instructed by the Former Prof. T. Katō, M. D.)

A single intraperitoneal injection of cadmium chloride was given to dd-n strain mice, each weighing approximately 10 grams, at the dosage of 0.03 m mol/kg; and the effects on alkaline phosphatase and LDH activity as well as LDH isozymes of the testes and sera were investigated, especially on their changes by time and by simultaneous administration of estrogen or androgen.

1. The tissue LDH activity was decreased after injection of CdCl_2 , and this tendency was more remarkable on estrogen administration.

On androgen administration, the LDH activity showed the higher level than the control group after a transient decrease.

No noticeable effect on the serum LDH activity was observed.

2. As to LDH isozymes, increase of type M and decrease of type H were observed after injection of CdCl_2 .

On estrogen administration, increase of type M was more remarkable.

No clear effect on the serum LDH isozymes was observed except a decrease of type H on androgen administration.

3. Alkaline phosphatase activity was markedly lowered by injection of CdCl_2 .

動物睪丸に対する cadmium (Cd) の作用については Alsberg (1919) などの報告にはじまるが Parizek (1957) が詳細にこの作用を検討し, Cd の 0.02~0.04 m mol/kg を1回だけ注射することによって48時間後ラットやマウスの

睪丸, 特に精細管の崩壊とともに間質における出血, ならびに炎症がみられることを明らかにし, Gunn (1961), Kar (1960), Parizek (1960) などはこれらの変化に続いて数週間経過すると間質組織の増生が起こることを報告するととも

* 現京都大学教授

に, Gunn (1961) は間質細胞腫瘍 (ICT) の生ずることを明らかにした。

著者はこれまでに前立腺, 腎について発癌を試み, その際みられる酵素活性の経時的変動を追求してきた。今回は比較的短期間ではあるが dd-n 系マウスを用い CdCl_2 による睾丸腫瘍, すなわち ICT の発生を試み, 経時的にその酵素活性の変動を血清ならびに睾丸組織について検討したのでこの結果を報告する。

実 験 法

10g 前後の雄 dd-n 系マウスに対し Gunn などの方法 (1963) に従って CdCl_2 (和光純薬, 特級) を蒸留水に溶かし, 体重kg当り 0.03 m mol の割で腹腔内に注射し, これを実験群とした。これに対し CdCl_2 投与当日より女性ホルモン (オパホルモン懸濁液, 帝臓) または男性ホルモン (エンアルモン懸濁液, 帝臓) を 1 回 0.1mg, 週 2 回の割合で背部皮下に投与を併用した女性ホルモン併用群, 男性ホルモン併用群とともに蒸留水のみの投与を行なった対照群の 4 群について経時的にこれを断頭出血し, その血清および睾丸組織について酵素活性を測定した。酵素活性の測定には 3 匹以上の平均をとり, 試料はいずれも 24 時間以内に処理した。なお血清は遠沈により容易に溶血をきたすのでわずかな溶血例はそのまま実験に供した。動物は水および飼料 (日本 Clea CE 2) を自由に摂取させ比較的恒温, 恒湿のもとに飼育した。

酵素活性の測定法および単位は前報と同様である。

成 績

I. Lactic Dehydrogenase (LDH)

A) 睾丸組織

対照群は $7 \sim 12 \times 10^4$ WU にあって加齢に伴う変化は明らかではない。 CdCl_2 投与群では著明な活性の低下がみられた。女性ホルモン併用群では対照に比し活性の低下は強いが, CdCl_2 単独投与群に比すればその活性低下が少なかった。男性ホルモン併用例ではその初期には活性の低下がみられたが, 後には対照群の値以上に活性が増加した。

B) 血 清

対照群は $13 \sim 19 \times 10^3$ WU を示し, CdCl_2 投与に基づく影響は明らかではないが, 対照群に比しやや高い活性を示した。女性ホルモン, 男性ホルモン併用に基づく変化は明らかではなかった。

II. LDH isozymes

A) 睾丸組織

M型およびH型の対照値はおのおの35~50%で第三分画は10%前後を示した。これに対し CdCl_2 を投与するとM型は増加, H型は減少, 第三分画はやや増加した。 CdCl_2 単独の場合に比し女性ホルモンの併用を行なうとM型がさらに増加し, H型の低下がみられた。男性ホルモンの併用によってM型はやや減少, H型ならびに第三分画の増加が見られたがその変化は少ない (Fig.)。

B) 血 清

対照群は55~71%のM型, 15~27%のH型, 13~21%の第三分画を示した。 CdCl_2 投与のこれら分画に対する影響は明らかではなかった。女性ホルモン併用によってもこれら isozymes に対する影響ははっきりしなかったが, 男性ホルモン併用例ではM型および第三分画がやや高く, H型の減少がみられた。

III. Alkaline Phosphatase (ALP)

A) 睾丸組織

対照群は $4 \sim 10 \times 10^2$ KAU を示し CdCl_2 投与によってその活性は著明に低下し, 女性ホルモンおよび男性ホルモンの併用はさらに活性の低下を示した。男性ホルモン併用群と女性ホルモン併用群を比較すれば女性ホルモン併用群がやや低い活性を示した。

B) 血 清

対照群では $10 \sim 30$ KAU を示し CdCl_2 投与, 女性ホルモン併用などの影響は明らかではなかったが, 男性ホルモン併用により活性の低下がみられた。

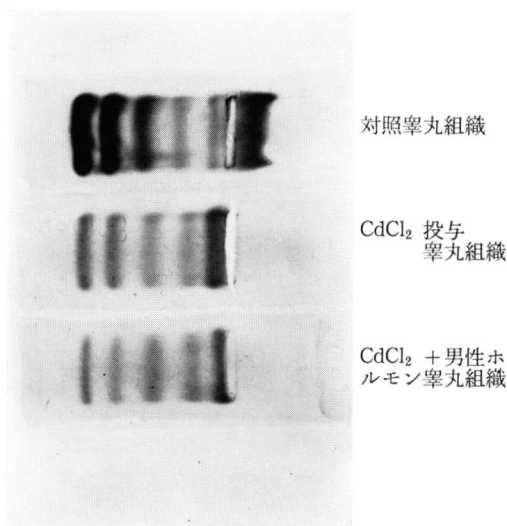


Fig. LDH isozymes zymogram

Table 1 Enzyme activities of the testis along with development.

Treatment Months	No. of Rats	LDH, total $\times 10^3$ WU	LDH-M %	LDH-III %	LDH-H %	ALP, total $\times 10^2$ KAU
1	5	82.0	41.7	10.6	47.7	7.8
2	5	75.0	43.8	10.5	45.7	4.8
3	5	97.0	49.6	12.4	38.0	4.7
4	5	120.0	43.1	11.7	45.2	6.1
4.5	5	81.9	39.6	15.6	44.8	
5	5	116.0	43.6	9.1	47.3	
7	5	80.0	47.2	11.7	41.1	9.5
Means		93.1	44.1	11.6	44.3	6.6

Table 2 Enzyme activities of the testis during CdCl₂ carcinogenesis.

Treatment Months	No. of Rats	LDH, total $\times 10^3$ WU	LDH-M %	LDH-III %	LDH-H %	ALP, total $\times 10^2$ KAU
1	5	25.0	48.1	13.7	38.2	3.1
2	5	31.5	55.1	15.0	29.9	9.9
3	5	50.0	53.7	15.9	30.4	3.4
4	5	23.0	52.9	14.8	32.3	3.1
5	5	18.0	64.0	16.3	19.7	
7	5	14.0	56.4	18.1	25.5	1.7
8	5	37.5	44.9	13.7	41.2	1.7
Means		28.4	53.6	15.4	31.0	3.8

Table 3 Effects of estradiol benzoate on enzyme activities of the testis during CdCl₂ carcinogenesis.

Treatment Months	No. of Rats	LDH, total $\times 10^3$ WU	LDH-M %	LDH-III %	LDH-H %	ALP, total $\times 10^2$ KAU
1	5	25.0	52.1	21.2	26.7	3.2
2	5	52.1	45.1	19.7	35.2	3.8
3	5	64.0	55.0	17.1	27.9	4.2
5	5	61.0	60.2	16.6	23.2	
6	5	31.5	61.1	16.4	22.5	5.2
7	5	34.5	68.9	12.7	18.4	8.1
Means		44.7	57.0	17.2	25.8	2.8

Table 4 Effects of testosterone propionate on enzyme activities of the testis during CdCl₂ carcinogenesis.

Treatment Months	No. of Rats	LDH, total $\times 10^3$ WU	LDH-M %	LDH-III %	LDH-H %	ALP, total $\times 10^2$ KAU
1	5	29.3	46.4	12.9	40.7	1.4
2	5	79.1	56.3	18.6	25.1	3.2
3	5	151.6	44.7	18.1	37.2	6.6
4	5	104.5	41.8	13.4	44.8	1.4
5	4	154.2	51.2	21.1	27.7	
6	5	120.7	49.6	23.0	27.4	
Means		106.5	48.4	17.8	33.8	3.1

Table 5 Enzyme activities of the serum along with development.

Treatment Months	No. of Rats	LDH, total $\times 10^2$ wu	LDH-M %	LDH-III %	LDH-H %	ALP, total $\times 10$ KAU
1	5	13.2	59.6	17.1	23.3	2.3
2	5	18.8	57.2	20.8	22.0	1.4
3	5	18.0	68.0	16.4	15.6	2.8
4	5	13.8	70.9	12.8	16.3	1.2
5	5	15.0	55.4	17.8	26.8	2.1
7	5	18.1	67.7	15.6	16.7	2.5
Means		16.1	63.1	16.8	20.1	2.1

Table 6 Enzyme activities of the serum during CdCl₂ carcinogenesis.

Treatment Months	No. of Rats	LDH, total $\times 10^2$ wu	LDH-M %	LDH-III %	LDH-H %	ALP, total $\times 10$ KAU
1	5	12.1	63.1	19.9	17.0	1.8
2	4	16.0	66.0	16.4	17.6	1.5
3	5	14.8	56.2	29.8	14.0	1.0
4	5	21.8	60.0	8.6	31.4	2.1
5	5	14.5	54.2	25.1	20.7	2.3
7	4	23.4	61.8	15.5	22.7	3.8
Means		17.1	60.2	19.2	20.6	2.1

Table 7 Effects of testosterone propionate on enzyme activities of the serum during CdCl₂ carcinogenesis.

Treatment Months	No. of Rats	LDH, total $\times 10^2$ wu	LDH-M %	LDH-III %	LDH-H %	ALP, total $\times 10$ KAU
1	5	9.8	69.4	18.8	11.8	1.3
2	5	23.0	69.6	9.5	20.9	1.9
3	5	11.7	66.0	22.0	12.0	0.7
4	5	12.0	64.6	21.6	13.8	0.8
5	4	17.4	55.2	27.4	17.4	1.8
6	5	20.4	64.0	17.7	18.3	1.1
Means		15.7	64.8	19.5	15.7	1.3

Table 8 Effects of estradiol benzoate on enzyme activities of the serum during CdCl₂ carcinogenesis.

Treatment Months	No. of Rats	LDH, total $\times 10^2$ wu	LDH-M %	LDH-III %	LDH-H %	ALP, total $\times 10$ KAU
1	5	16.6	67.4	13.0	19.6	1.8
2	5	14.8	72.1	14.1	13.8	2.4
3	4	13.7	64.5	15.3	20.2	0.8
5	5	18.6	58.9	19.5	21.6	1.8
6	5	21.4	57.4	18.0	24.6	2.4
7	4	17.6	60.3	16.1	23.6	2.1
8	6	16.3				1.9
Means		17.0	63.4	16.0	20.6	1.9

考 按

エストロゲン様作用物質による実験的 ICT に関し Andervont (1957), Gardner (1958) などの報告があり、そのほか Biskind (1945), Jones (1955) による睪丸組織の膀胱内移植、Fels (1958) による内精系動脈、輸出動脈の結紮にもとづく ICT の発生などがある。一方 Mason (1964), Niemi (1965) などは CdCl_2 を雄性ラットに1度だけ非経口的に投与することにより睪丸の血行障害を起こし、この結果精細管ならびに間質に変化をきたすことを明らかにし、さらにこの結果14カ月の中にはマウスで77%に ICT の発生がみられたと Gunn (1963) は報告し、この原因として睪丸への血行が選択的に障害されるためであるとした。Parizek (1960) は生後9~16日の Wistar 系ラットに対し CdCl_2 を投与した場合このような変化が起こらないことを明らかにした。また CdCl_2 に基づく血管性の変化がエストロゲンによって抑制されることも Gunn (1965) によって報告される場所である。これらの事実は ICT の発生にホルモ的な因子の関与することを推定させるものである。以上のような理由から ICT が CdCl_2 により発生し、また性ホルモンによってこれが修飾をうけることは明らかで、今回の実験は期間は短い、Gunn などの報告に従えば前癌状態ないし癌化への過程での睪丸および血清の酵素活性の変動を追ったことになる。

Douglas (1963), Mori (1962) などにより腫瘍部分で LDH 活性の増大があるといわれている。しかし活性の増大は Douglas によるとその速やかな発育と代謝の結果であろうと解されている。今回の実験では CdCl_2 の投与量が多かったためか精細管の消失、石灰沈着、結合織の増生などが著明で、褐色色素の間質への沈着、円形細胞の浸潤などもみられた。しかし間細胞の増殖はまだ著明ではなかったが、 CdCl_2 投与により LDH 活性が著明に低下したことは Gunn などが述べるように血管系の障害に基づく睪丸代謝の低下がその原因であり、Douglas のいう代謝の低下があるとする説と一致する。また女性ホルモン投与により血管障害の抑制がみられ

ることを Gunn は明らかにしているが、 CdCl_2 に女性ホルモンを併用した今回の成績は活性低下の抑制に女性ホルモンが役立ったものと考えられる。男性ホルモン併用による活性の低下につぐ増大は、3カ月以後において男性ホルモンのもつ代謝促進作用が強く働いたためであると考えられ、Goodfriend (1964) が男性ホルモンをラットに投与し前立腺、精囊腺の LDH 活性が増加したとする成績に一致する。

睪丸における LDH isozymes の由来は明らかではないが、LDH-I (MMMM) が CdCl_2 投与によって消失したことは注目すべきで、睪丸腫瘍の場合異常帯が見られるとする成績に反する。しかし Allen (1961) が副睪丸への血管を切除し isozymes のひとつが失われることを明らかにしているが、著者の場合 CdCl_2 投与によって睪丸が強い石灰化を伴った変性と再生の状態にあったこと、さらに Gunn などの CdCl_2 の血管系に及ぼす影響などからみれば規を一にする所見と考えられる。このほか LDH-M の増加がみられたことは組織の呼吸適合性からみて理解できるところであろう。

性ホルモン投与による M—H 分布に対する影響として Allen (1961), Richterlich (1963) などの報告をみるが、今回の実験でもその意義はなお不明な点も多いが性ホルモンによる修飾がみられたことはこれらの文献と一致する。

睪丸 A β P は間質細胞および精子細胞に染まるが活性は弱く、seminoma の場合腫瘍細胞に活性の増大がみられると Wachstein (1953) は述べ、Gomori (1954) は embryonal carcinoma の場合にも活性の増加があったとした。著者の今回の成績からは CdCl_2 の投与により著明に活性が低下したが血清 A β P への影響は明らかではなかった。

結 語

10g 前後の dd-n 系マウスに対し 0.03mmol/kg の割合に CdCl_2 を腹腔内に1回注射し、以後経時的に睪丸および血清の示す LDH, A β P 活性ならびに LDH isozymes の変動を追うとともに性ホルモンによる修飾を検討し次の結果を得た。

1. CdCl_2 投与により組織 LDH 活性は低下，女性ホルモン併用により，より活性が低下したが，男性ホルモン併用により一時減少するも後には対照より高い活性を示した。血清に対する影響は少なかった。

2. LDH isozymes は CdCl_2 投与により M 型の増加，H 型の減少がみられた。女性ホルモン併用により M 型はさらに増加した。血清に対する影響は明らかでなかったが，男性ホルモン併用では H 型の減少がみられた。

3. CdCl_2 投与により ALP 活性は著明に低下した。

(終るにあたり恩師加藤前教授の御指導，仁平教授の御校閲を感謝致します。なお本稿の要旨は1965年4月5日，京都市における第54回日本泌尿器科学会シンポジウム“酵素と泌尿器癌”(司会 加藤篤二教授)の一部として発表した。)

文 献

- 1) Allen, J. M.: Ann. N. Y. Acad. Sci., **94**: 937, 1961.
- 2) Alsberg, C. L. & Schwartz, E. W.: J. Pharmacol., **13**: 504, 1919.
- 3) Andervont, H. B., Shimkin, M. B. & Canter, H. Y.: J. Nat. Cancer Inst., **18**: 1, 1957.
- 4) Biskind, M. S. & Biskind, G. R.: Proc. Soc. Exptl. Biol. & Med., **59**: 4, 1945.
- 5) Douglas, W. R.: Brit. J. Cancer, **17**: 415, 1963.
- 6) Fels, E. & Bur, G. E.: C. R. Soc. Biol., **152**: 1395, 1958.
- 7) Gardner, W. U.: Testicular tumorigenesis.

- Ciba Found. Coll. on Endocrinology, Vol. **12**, Little Brown, Boston, 1958.
- 8) Gomori, G.: Cytochemistry & Histochemistry, ed. by Homburger, 1st ed., Hoeber, New York, 1953.
- 9) Goodfriend, T. L. & Kaplan, N. O.: J. Biol. Chem., **239**: 130, 1960.
- 10) Gunn, S. A., Gould, T. C. & Anderson, W. A. D.: Arch. Path., **71**: 274, 1961.
- 11) Ditto: J. Nat. Cancer Inst., **31**: 745, 1963.
- 12) Ditto: Proc. Soc. Exptl. Biol. & Med., **119**: 901, 1965.
- 13) Jones, A.: Brit. J. Cancer, **9**: 640, 1955.
- 14) Kar, A. B. & Das, R. P.: Acta Biol. Med. Germ., **5**: 153, 1960.
- 15) Mason, K. E., Brown, J. A., Young, J. O. & Nesbit, R. R.: Anat. Rec., **149**: 135, 1964.
- 16) Mori, M., Miyaji, T., Murata, I. & Nagasuna, H.: Cancer Res., **22**: 1323, 1962.
- 17) Niemi, M. & Korman, M.: Acta Path. Microbiol. Scand., **63**: 513, 1965.
- 18) Parizek, J.: J. Reprod. Fertil., **1**: 291, 1960.
- 19) Ditto: J. Endocrinol., **15**: 56, 1957.
- 20) Parizek, J. & Zahor, Z.: Nature, **177**: 1036, 1956.
- 21) Richterlich, R., Schafroth, P. & Aebi, H.: Clin. Chim. Acta, **8**: 178, 1963.
- 22) Wachstein, M.: J. Histochem. & Cytochem. **2**: 137, 1954.

(1968年4月30日受付)